

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

Versie 2006

Herziene versie

DECNR: 2011-012

Ontvangen: 04-02-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
02-03-2011	Nieuw / Herz.versie / Pilot

VROM/GGONR ³

LNV/CBDNR ⁴

Hoofdproject	CARIM	NUTRIM	Hersenen en gedrag	GROW	biomaterialen	Ander UM	Geen UM
--------------	-------	--------	--------------------	------	---------------	----------	---------

Deelproject	1. 2. 3.	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3.	1. 2. 3.			
-------------	----------	-------------	----------	----------	--	--	--

Financieel beheerder	
----------------------	--

Budgetnummer	31962241N
--------------	-----------

Titel van het onderzoek:

Anti-Mincle als therapie voor renale ischemie/reperfusie schade.

startdatum 01-03-2011

einddatum ⁹ 31-12-2012

Duur van de proef¹⁰: 24 uur

Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegdheid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)			Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)			Art.9	
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷				
4. Principal Investigator			Art.9	
5. overige uitvoerenden			Art.9/12 ⁸ Anders ⁶ :	

Diergroep	1	2	3	4			
ctrl/exp/sham	I/R	I/R	I/R	Sham			
Diersoort	1	1	1	1			
Stam	C57BL/6 J	C57BL/6 J	C57BL/6 J	C57BL/6 J			
Construct / mutatie ?	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.			
Herkomst (leverancier) *	2	2	2	2			
Aantal	10	10	10	5			
Geslacht	M	M	M	M			
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja	ja	ja			
Leeftijd/gewicht	> 8 weken	>8 weken	>8 weken	>8 weken			
Doel van de proef *	33	33	33	33			
Belang van de proef *	1	1	1	1			
Toxicologisch onderzoek *	1	1	1	1			
Bijzondere technieken *	1	1	1	1			
Anesthesie *	4	4	4	4			
Pijnbestrijding *	4	4	4	4			
Mate ongerief *	5	5	5	5			
Toestand dier einde exp*	1	1	1	1			

* VHI-coderingen zie bijlage

1 Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM (kaders zijn licht flexibel, maar het geheel is max. 5 pag. versie 2006)
Titel: Anti-Mincle als therapie voor renale ischemie/reperfusie schade.

1. Doel van de proef.

Aanleiding tot onderzoek

Niertransplantatie is de behandeling van voorkeur voor patiënten met terminale nierinsufficiëntie en resulteert in een langere levensverwachting en een betere kwaliteit van leven dan behandeling met dialyse. Het aantal hersendode donoren is echter niet groot genoeg om alle kandidaten voor niertransplantatie te kunnen behandelen. Het aantal beschikbare donornieren kan worden vergroot door gebruik te maken van patiënten die aan een hartstilstand overlijden (zogenaamde non-heart-beating donoren [1]). Bij deze donoren worden de nieren echter beschadigd door de periode van warme ischemie die optreedt na het overlijden van de patiënt. Bij reperfusie van de nier in de ontvanger wordt deze schade vergroot door een complexe wisselwerking van oxidatieve stress, apoptose/necrose, activatie van het complement systeem, productie van cytokines en adhesiemoleculen, infiltratie van neutrofielen en andere leukocyten, en dysfunctie van het endotheel van de bloedvaten in de nier [2]. Door deze ischemie/reperfusie schade moeten de meeste ontvangers van deze nieren nog enige weken dialyseren terwijl de nier zich herstelt en is er bovendien een aanzienlijk percentage nieren (15-25%) dat nooit functioneert. Ontvangers van een niet-functionerende nier ondergaan een onnodige operatie en ontwikkelen antilichamen tegen de donornier waardoor de kans op een nieuwe transplantatie kleiner is. Het is daarom belangrijk om nieuwe therapieën te ontwikkelen voor behandeling van nierschade die ontstaat na ischemie en reperfusie.

Doel van onderzoek

Het is reeds bekend dat inflammatie bij de pathogenese van ischemie/reperfusie schade van de nier een rol speelt [3,4]. De Mincle-receptor op macrofagen blijkt een grote rol te spelen bij het recruterende van neutrofielen en hierbij het verergeren van het inflammatoire proces [5]. Een Japanse onderzoeksgroep heeft een antilichaam ontwikkeld om deze Mincle-receptor te blokkeren en hierbij het inflammatoire proces te remmen. Om deze redenen willen wij onderzoeken of toediening van anti-Mincle in de nier schade na ischemie en reperfusie kan voorkomen.

Inkadering in onderzoekslijn

Het betreft een nieuw onderzoek dat valt binnen het klinische non-heart-beating donor niertransplantatie project van de onder leiding van
en binnen het experimentele nier ischemie/reperfusie project in het laboratorium van van
. De experimentele opzet komt overeen met een eerder project onder DEC-nummer 2009-145.

Referenties

1. Brook NR, Waller JR, Nicholson ML. Nonheart-beating kidney donation: current practice and future developments. *Kidney Int* 2003;63(4):1516-29.
2. Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *J Clin Invest* 2004;114(1):5-14.
3. Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney international*. 2004 Aug;66(2):480-5.
4. De Vries B, Matthijsen RA, Wolfs TG, Van Bijnen AA, Heeringa P, Buurman WA. Inhibition of complement factor C5 protects against renal ischemia-reperfusion injury: inhibition of late apoptosis and inflammation. *Transplantation*. 2003 Feb 15;75(3):375-82.
5. Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, Hara H, Ogata K, Saito T. Mincle is an ITAM-coupled activating receptor

that senses damaged cells. Nature immunology. 2008 Oct;9(10):1179-88.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang

Door ischemie/reperfusie schade is de nierfunctie van non-heart-beating donornieren in de eerste weken na transplantatie meestal onvoldoende. Bovendien is 15-25% van deze niertransplantaties niet functioneel. Het is wenselijk om nieuwe therapieën te ontwikkelen om de nierfunctie na transplantatie te verbeteren en het percentage niet-functionerende nieren te verkleinen. Dit zou de acceptatie en het gebruik van non-heart-beating donoren vergroten waardoor meer patiënten met terminale nierinsufficiëntie een donornier kunnen ontvangen.

3. Alternatieven

Vervanging / verfijning

Ischemie/reperfusie schade wordt veroorzaakt door een complexe wisselwerking van verscheidene factoren. Het immuunsysteem speelt hierbij een belangrijke rol[1]. Voor het onderzoek naar het effect van anti-Mincle op de ischemie/reperfusie schade is het belangrijk om het effect van het complete immuunsysteem hierbij te betrekken. Vervanging van proefdieren is hierbij niet mogelijk. Er zal voor adequate huisvesting, anesthesie, pijnstilling en euthanasie worden gezorgd om de proefdieren zo min mogelijk ongerief toe te brengen.

Vermindering

De grootte van de onderzoeksgroepen is onderbouwd met een statistische analyse.

Referenties

1. Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y, et al. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. J Clin Invest 2000 ;105(10) :1363-71

4. Ethische afweging

Dit onderzoek kan een eerste stap zijn naar een nieuwe therapie voor de behandeling van acute nierschade na ischemie en reperfusie. Ons inziens weegt dit op tegen het ernstig ongerief dat de proefdieren zullen ondervinden.

5. Wetenschappelijke onderbouwing

Het complement systeem bij ischemie/reperfusie van de getransplanteerde nier

Apoptotische en necrotische cellen die tijdens en na ischemie/reperfusie ontstaan, spelen een aanzienlijke rol bij het ontstaan van nierschade na ischemie/reperfusie. Deze cellen worden herkend door macrofagen, die weer een inflammatoir proces versterken. Recent is door een Japanse onderzoeksgroep de receptor Mincle geïdentificeerd als belangrijke schakel in dit proces. Activatie van Mincle vindt plaats door binding van oorspronkelijk intracellulaire eiwitten die bij necrose of overmatige apoptose vrijkomen (SAP130). Na activatie treedt door middel van een cascade in de macrofaag recrutie op van neutrofielen [1]. Deze reacties leiden tot acute schade, waardoor donornieren minder goed of nooit zullen functioneren na transplantatie [2]. Door dezelfde Japanse groep is het anti-lichaam anti-Mincle ontwikkeld, wat bovenstaande cascade blokkeert. Om te demonstreren dat dit antilichaam functioneert, tonen ze aan dat aantrekking van neutrofielen in de thymus geremd wordt na necrose van de thymocyten door middel van bestraling. Tevens wordt de productie van inflammatoire cytokinen geremd [1]. Gezien het feit dat apoptose/necrose en het inflammatoire proces een grote rol spelen in het ontstaan van ischemie/reperfusie schade zien wij een goede potentiële therapie om ischemie/reperfusie schade te verminderen bij getransplanteerde nieren. Een proefdieronderzoek is noodzakelijk om in-vivo het effect van anti-Mincle bij ischemie/reperfusie schade bij nieren te onderzoeken.

Eigenschappen van anti-Mincle

Anti-Mincle is het enige bekende anti-lichaam van de Mincle-receptor. Blokkering van deze receptor leidt tot verminderde aantrekking van neutrofielen in het beschadigde weefsel en hierbij tot een verminderde ontstekingsreactie (zie figuur 1). Dit leidt mogelijk weer tot een verbetering in de nierfunctie. Onderzoek naar het effect van anti-Mincle bij ischemie/reperfusie schade is nog niet verricht.

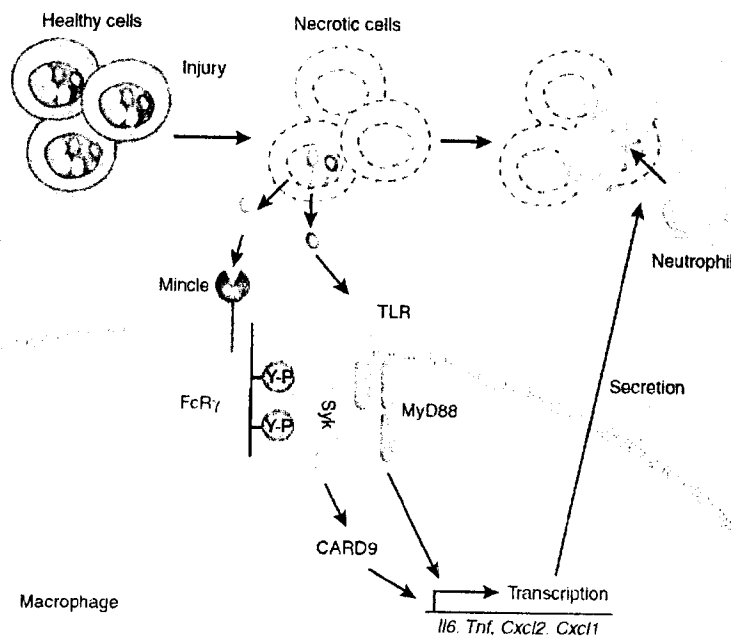


Figure 1.

Referenties

1. Brown GD. Sensing necrosis with Mincle. *Nature immunology*. 2008 Oct;9(10):1099-100.

2. Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y, et al. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. The Journal of clinical investigation. 2000 May;105(10):1363-71.

6. Wetenschappelijke beoordeling

Dit onderzoeksplan is door principal investigator

gelezen en akkoord bevonden.

Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Voor de experimenten worden mannelijke C57Bl/6 muizen gebruikt van minimaal 8 weken oud, afkomstig van Charles River. Het is niet mogelijk eerder benutte proefdieren voor dit onderzoek te gebruiken. Na het experiment zullen de muizen worden gedood. Eerder onderzoek liet zien dat het afklemmen van de nierarterie en -vene bij deze muizen tot reproduceerbare, ernstige nierschade leidt.

7b. Sexe

Omdat verschillen bestaan in ischemie/reperfusie schade tussen de seksen is het nodig een keuze te maken tussen mannelijke en vrouwelijke muizen om de experimentele groepen klein te houden door variatie te vermijden [1]. Wij kiezen voor mannelijke muizen omdat wij hiermee ervaring hebben opgedaan in vorige experimenten.

7.c. Aantallen

De volgende onderzoeksgroepen worden gebruikt:

Groep	Ischemie	Interventie
1	25 minuten	Anti-Mincle
2	25 minuten	Isotype control (rat IgG)
3	25 minuten	Positieve controle (5 mg hAGP)
4	Sham	Sham

Een kleine sham-groep van 5 muizen zal worden gebruikt.

Bij poweranalyse wordt uitgegaan van tweezijdige statistische toetsing met $\alpha=0,05$ en $\beta=0,20$. In vorige experimenten bleek dat de standaarddeviatie van de serum kreatinine concentratie binnen de controlegroepen 15% van de gemiddelde waarde is. Twintig procent verschil in serum creatinine concentratie tussen groepen wordt relevant geacht. Uitgaande van deze variabelen wordt een groepsgrootte van 8,8 berekend ($N=15,7 * (\text{spreiding})^2 / (\text{beoogd effect})^2 = 15,7 * (15)^2 / (20)^2$). Op grond van vorige experimenten wordt het uitvalspercentage op 10% geschat, hetgeen een totale groepsgrootte van 10 muizen maakt.

Totale aantal: $3 * 10 + 5 = 35$ muizen.

Referentie

Kher A, Meldrum KK, Wang M, Tsai BM, Pitcher JM, Meldrum DR. Cellular and molecular mechanisms of sex differences in renal ischemia-reperfusion injury. Cardiovasc Res 2005;67(4):594-603.

6 Dierproef

8. Experiment

Experimentele opzet

Het onderzoek is een gerandomiseerd, geblindeerd, prospectief experiment. Blindering is mogelijk bij het toedienen van verschillende interventies. Nierweefsel en plasma zullen ook geblindeerd worden geanalyseerd. In de ischemie/reperfusie groep is een positieve controlegroep toegevoegd die 5 mg humaan alpha-1-glycoproteïne (hAGP) toegediend krijgt. In onze handen heeft toediening van hAGP een zeer consistente beschermende werking op ischemie/reperfusie schade van nieren in muizen [1]. We kunnen deze groep dus gebruiken om te controleren of het experiment correct is uitgevoerd. De volgende onderzoeksgroepen worden gebruikt:

De volgende onderzoeksgroepen worden gebruikt:

Groep	Ischemie	Interventie	Aantal muizen
1	25 minuten	Anti-Mincle (0.5 mg)	10
2	25 minuten	Isotype control (0.5 mg rat IgG)	10
3	25 minuten	Positieve controle (5 mg hAGP)	10
4	Sham	Sham	5

Renaal ischemie/reperfusie model

- Algehele anesthesie (xylazine s.c. / ketamine s.c.).
- Operatie: ischemie/reperfusie linkernier en uitname rechternier (60 minuten) [SOP1].
- Euthanasie na 24 uur met bloedafname en uitname linkernier [SOP2].

Toediening interventie

Bij de muizen wordt 1 uur voor het plaatsen van de vaatklep de juiste interventie, afhankelijk van de groep, intraveneus ingespoten.

Vraagstelling

1. Beschermt toediening van anti-Mincle de nier tegen schade door ischemie en reperfusie?
2. Remt anti-Mincle de ontstekingsreactie en hierbij de aantrekking van neutrofielen?

Uitkomstmaten

1. Primaire uitkomstmaat is plasma kreatinine en ureum na 24 uur. Secundaire uitkomstmaten zijn histologische beoordeling van nierweefsel, apoptose en necrose van tubulusepitheel en inflammatoire cytokines in serum (IL-6, TNF- α en IL-10). De hiervoor benodigde technieken werden bij eerdere experimenten met ons model van renale ischemie/reperfusie in ons laboratorium ontwikkeld [1, 2].
2. Infiltratie van neutrofielen in nierweefsel en inflammatoire cytokines in het serum (IL-6, TNF- α en IL-10).

Referenties

1. de Vries B, Walter SJ, Wolfs TG, Hochepleid T, Rabina J, Heeringa P, et al. Exogenous alpha-1-acid glycoprotein protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of inflammation and apoptosis. *Transplantation* 2004;78(8):1116-24.
2. de Vries B, Matthijsen RA, van Bijnen AA, Wolfs TG, Buurman WA. Lysophosphatidic acid prevents renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of apoptosis and complement activation. *Am J Pathol* 2003;163(1):47-56.

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

De muizen worden onder anesthesie gebracht met xylazine 10 mg/kg s.c. en ketamine 100 mg/kg s.c. (~250 µl). Ieder half uur zal anesthesie worden onderhouden met ketamine 30-50 mg/kg s.c. (~100 µl) en xylazine 3-5 mg/kg s.c. De onderzoekers zijn zich ervan bewust dat xylazine een vermindering geeft van het slagvolume. Daarentegen geeft ketamine een verhoogde hartfrequentie, waardoor het effect van xylazine vrijwel opgeheven wordt. Inhalatie anesthesie is bij deze experimenten niet mogelijk omdat isofluraan een beschermend effect heeft op ischemie/reperfusie schade van de nier [1].

9b. Pijnbestrijding

In onze experimenten wordt pijn met name veroorzaakt door de chirurgische wond. Het volstaat daarom bupivacaïne 0.25% op de wondrand aan te brengen (het pijnstillende effect houdt ongeveer 6 uur aan). Morfine-achtige pijnstillers en NSAID's worden niet gebruikt in onze experimenten omdat zij het immuunsysteem beïnvloeden [2].

Afwijkend gedrag als uiting van pijn wordt geregistreerd in het welzijnslogboek door de diervverzorgers en de onderzoekers.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

Voor euthanasie worden de muizen onder anesthesie gebracht met xylazine 10 mg/kg s.c. en ketamine 100 mg/kg s.c. Na het openen van de buikholte vindt euthanasie plaats door verbloeding via een punctie van de vena cava. Hiermee wordt serum verkregen voor verdere analyse. Aansluitend wordt de nier verwijderd voor verder onderzoek en vindt cervicale dislocatie plaats. Bij ethisch onaanvaardbaar ernstig ongerief, blijkend uit cachexie, de afwezigheid van exploratief gedrag en/of het niet meer eten en drinken, zal in overleg met de onderzoeker besloten worden tot euthanasie voor het einde van het experiment. Het scoren van het ongerief zal d.m.v. het scoreformulier "Post-op Animal Health Score Sheet" (bijlage 2) gebeuren. Euthanasie wordt in dit geval verricht met CO₂/O₂, gevolgd door CO₂.

Referenties

1. Hashiguchi H, Morooka H, Miyoshi H, Matsumoto M, Koji T, Sumikawa K. Isoflurane protects renal function against ischemia and reperfusion through inhibition of protein kinases, JNK and ERK. *Anesth Analg* 2005;101(6):1584-9.
2. Piersma FE, Daemen MA, Bogaard AE, Buurman WA. Interference of pain control employing opioids in in vivo immunological experiments. *Lab Anim* 1999;33(4):328-33.

10a. Ongerief

	Aard ongerief	Frequentie	Handeling	Beschrijving	Duur	Mate ongerief
1	Pre-operatief	Eenmalig	Hanteren muizen/verzorging		30 min	02
2	Operatie	Eenmalig	Anesthesie (s.c. injectie)	SOP1	60 min	02
3	Post-operatief	Eenmalig	Bijkomen en herstel onder pijnstilling	9B	Tot 24 uur	05
4	Opoffering	Eenmalig	Euthanasie	SOP2	5 min	01
	Totaal				24 uur	05

10b. Welzijnsevaluatie

Ervaring uit vorige experimenten leert dat adequate, lokale pijnstilling direct na operatie het ongerief voor de muizen zo veel mogelijk beperkt.

11. Verzorging en huisvesting

De muizen worden op gebruikelijk wijze verzorgd en gehuisvest bij de Centrale Proefdier Voorzieningen van de Universiteit Maastricht. Na de operatie worden de muizen solitair gehuisvest tot het ontwaken en ze zelfstandig in staat zijn te eten en drinken. Hierna zullen de muizen in twee- of drietallen gehuisvest worden. Er zal er een 'drink-pad' op de bodem van de kooi gelegd worden. Bij calamiteiten kan) worden gewaarschuwd.

12. Deskundigheid

Voor het uitvoeren van de experimenten is in onze onderzoeksgroep voldoende ervaring aanwezig. Alle proefdierhandelingen binnen dit protocol zullen worden uitgevoerd door verzorgers van het CPV (dagelijkse verzorging) en onderzoeker (renale I/R, nefrectomie, euthanasie), artikel 9 bevoegd.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

Zij bijlagen.

SOP 1: Renale ischemie en reperfusie

SOP 2: Euthanasie

Relevante literatuur

Bijlage 1: Standard operating procedures

Zie hiervoor ook DECNR 2009-145.

SOP 1: Renale ischemie en reperfusie

Materialen

- 1.0 ml spuit
- oranje (25G) naalden
- xylazine 10 mg/kg
- ketamine 100 mg/kg
- tondeuze
- betadine oplossing
- warmhoudmatje
- verband pleister
- operatie microscoop
- OK materialen (pincet, schaar, atraumatische vaatklem)
- steriele 5x5 cm gazen
- steriele wattenstokjes
- bupivacaïne 0.25%
- vicryl 4/0
- oogzalf

Procedure

1. injectie xylazine (10 mg/kg s.c.) en ketamine (100 mg/kg s.c.) (~250 µl)
2. oogzalf aanbrengen
3. scheren huid abdomen
4. ontsmetten huid abdomen met betadine oplossing
5. fixeren muis in rugligging op warmhoudmatje m.b.v. pleister
6. openen abdomen via mediane incisie m.b.v. scherpe schaar
7. darmpakket inpakken in vochtige gazen en buiten buikholte brengen
8. stomp vrijleggen linker nierarterie en -vene
9. plaatsen atraumatische vaatklem op arterie en -vene
10. toediening van interventie
11. na 25 minuten verwijderen vaatklem en controle reperfusie linker nier
12. vrijleggen rechter nier
13. nefrectomie rechts
14. pijnmedicatie toedienen (intradermaal)
15. sluiten abdomen in 2 lagen met doorlopende hechting (vicryl 4/0)
16. injectie fysiologisch zout (1 ml s.c.)
17. tijdens herstelfase blijft de muis op het warmhoudmatje liggen

SOP 2: Euthanasie

Materialen

- 1.0 ml spuit
- oranje (25G) naald
- blauwe (23G) naald
- xylazine 10 mg/kg

- ketamine 100 mg/kg
- betadine oplossing
- warmhoudmatje
- verband pleister
- chirurgische mesjes, no 24
- operatie microscoop
- OK materialen (pincet, schaar, vaatklem)
- 5x5 cm gazen
- steriel fysiologisch zout
- steriele wattenstokjes

Procedure

1. injectie xylazine (10 mg/kg s.c.) en ketamine (100 mg/kg s.c.) (~250 μ l)
2. ontsmetten huid abdomen met betadine oplossing
3. fixeren muis in rugligging op warmhoudmatje m.b.v. pleister
4. openen hechtingen
5. darmen buiten abdominale holte in natte gazen verpakken
6. vena cava vrijleggen
7. m.b.v. blauwe naald en 1.0 ml spuit finale bloedafname uit v. cava
8. vrijleggen linker nier
9. uitnemen linker nier
10. cervicale dislocatie

Bijlage 2 :

Animal Welfare Score Sheet for Rodents *One sheet per animal to record parameters listed below*

Animal/Species # _____ **Date of Treatment/operation** _____

Pre-study Bodyweight _____ Surgeon _____ AEC# _____

[illegible]

BODY WEIGHT & B.A.R (bright, alert, responsive) SCORE (normal is 0, score 1,2,3 for ↑ in severity)					
Body wt yesterday					

[illegible]

GENERAL CLINICAL SIGNS* (score normal animal as 0, score 1,2,3 for ↑ in severity)

[illegible]

BEHAVIOURAL SIGNS OF PAIN (score normal animal as 0, score 1, 2, 3 for ↑ in severity)

[illegible]

OPERATION SITE

[illegible]

POST-OP SUPPORT – Analgesic Administration

[illegible]

Humane eindpunten

Bij ethisch onaanvaardbaar ernstig ongerief, blijkend uit cachexie, de afwezigheid van exploratief gedrag en/of het niet meer eten en drinken, zal in overleg met de onderzoeker besloten worden tot euthanasie voor het einde van het experiment. Euthanasie wordt in dit geval verricht met CO₂/O₂, gevolgd door CO₂.



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

voorzitter

p/a Secretariaat DEC-UM

Postbus 616

NL-6200 MD Maastricht

Telefoon:

Uw referentie:

Onze referentie :

Maastricht, 02-02-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Anti-Mincle als therapie voor renale ischemie/reperfusie schade*", is op de DEC vergadering van 28 januari 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- De DEC verzoekt de eerste en laatste zin bij punt 6 te verwijderen en het woordje "Het" onderzoeksplan, aan te passen in "Dit" onderzoekplan.
- De DEC wenst een toelichting van het gebruik van de shamgroep en tevens de groepsgrootte daarvan.
- Bij punt 10a- punt 3 aanpassen in "tot 24 uur".
- De DEC vraagt zich af of het noodzakelijk is de dieren 24 uur in leven te houden, om de gevolgen van de ischemieschade te bepalen (gezien de ernst van het ongerief).

Conclusie:

Het project wordt aangehouden.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in **een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.**

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer **2011-012**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Geachte commissie,

Naar aanleiding van uw reactie op project 2011-012 wil ik graag ingaan op uw vragen en opmerkingen. Het protocol is conform aangepast.

- De DEC verzoekt de eerste en laatste zin bij punt 6 te verwijderen en het woordje "Het" onderzoeksplan, aan te passen in "Dit" onderzoekplan.

Reactie:

Het gevraagde is aangepast in het onderzoeksprotocol.

- De DEC wenst een toelichting van het gebruik van de shamgroep en tevens de groeps grootte daarvan.

Reactie:

In eerste instantie was het de bedoeling om gebruik te maken van historische gegevens, wat het gebruik van een sham-groep overbodig maakte. Het meenemen van een (kleine) sham-groep ter bevestiging van eerdere data lijkt ons echter toch verstandig. Dit was tevens een advies van na een eerste beoordeling van het protocol.

Per abuis is de groeps grootte voor de shamgroep in het protocol op "4" komen te staan. Bedoeling was echter om de helft van de overige groepen te nemen. Daarom is nu de grootte van de sham-groep op "5" gezet. Dit is aangepast in het protocol en op het voorblad.

- Bij punt 10a- punt 3 aanpassen in "tot 24 uur".

Reactie:

Dit is aangepast in het protocol.

- De DEC vraagt zich af of het noodzakelijk is de dieren 24 uur in leven te houden, om de gevolgen van de ischemieschade te bepalen (gezien de ernst van het ongerief).

Reactie:

Uit onze ervaring met vorige projecten is duidelijk geworden dat na ongeveer 24 uur de (ernstige) nierschade leidt tot een stabiele, slechte nierfunctie. Op dat moment zal het beoogde effect van ongeveer 20% bereikt zijn tussen de verschillende groepen (behandeld met anti-Mincle en isotype control rat IgG). Door op dit moment de nierfunctie te meten, kunnen we de grootte van de groepen op 10 muizen houden.

Met vriendelijke groet,

Arts-onderzoeker,

Aan:

*Ons kenmerk**Doorkiesnummer**Maastricht*
07-03-2011**Project:** *Anti-Mincle als therapie voor renale ischemie/reperfusie schade.*DEC-UM
Voorzitter DEC-UM**Verantwoordelijk onderzoeker (VO):**

p/a secretariaat DEC-UM

Hierbij delen wij U mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

Secretariaat DEC-UM

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een **positief advies**.

Bezoekadres

Projectnummer: 2011-012
Diersoort: muis
Aantal dieren: 35
Einddatum: 02-03-2015

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Uw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit nummer aan te vragen.

Voorzitter DEC-UM

Vice-Voorzitter DEC-UM